

[19]中华人民共和国国家知识产权局

[51]Int. Cl⁶

A23D 7/01

A23D 7/00

[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 98116158.8

[43]公开日 1999 年 1 月 27 日

[11]公开号 CN 1205839A

[22]申请日 98.7.22 [21]申请号 98116158.8

[30]优先权

[32]97.7.22 [33]EP [31]97202289.1

[71]申请人 雀巢制品公司

地址 瑞士沃韦

[72]发明人 王军宽 R·贝托勒特 M·弗雷斯
P·度克雷特

[74]专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司

代理人 罗 宏 谭明胜

权利要求书 2 页 说明书 9 页 附图页数 0 页

[54]发明名称 用于婴儿制剂的脂类组合物及其制备方法

[57]摘要

婴儿制剂用脂类组合物及制备方法,

其中脂肪酸含量和分布类似于人乳脂肪脂肪酸含量和分布的合成脂类组合物含低于 2% 重量的游离脂肪酸,其中棕榈酸主要在三酰甘油的 2 位,而花生四烯酸和二十二碳六烯酸分布于 1-、2- 和 3- 位之间,特别主要在三酰甘油的 2- 位。

权 利 要 求 书

1. 合成的脂类组合物, 其中脂肪酸的含量及分布接近于人乳脂肪的脂肪酸的含量及分布, 其特征在于:

- 所述组合物含低于 2% 重量比的游离脂肪酸,
- 按重量计, 三酰甘油的脂肪酸含:
- 35% 到 55% 的饱和脂肪酸, 其中 18% 到 36% 的棕榈酸, 2 到 40% 的辛酸和癸酸, 最多 10% 月桂酸和最多 10% 肉豆蔻酸,
- 30 到 45% 的单不饱和脂肪酸,
- 9 到 22% 的多聚不饱和脂肪酸, 其中含花生四烯酸的长链 n-6 聚不饱和脂肪酸低于 2%, 而含二十二碳六烯酸的长链 n-3 不饱和脂肪酸低于 1%, 并且 n-6: n-3 脂肪酸之比率是 5: 1 到 15: 1,

2. 棕榈酸主要在三酰甘油的 2 位, 而花生四烯酸和二十二碳六烯酸分布在三酰甘油的 1-, 2-, 和 3-位。

3. 权利要求 1 的脂类组合物, 其特征在于三酰甘油脂肪酸含 2 到 10% 重量的辛酸和癸酸。

权利要求 1 的脂类组合物, 其特征在于其具有氧化稳定性 OSI, 在 80℃ 和空气流速为 150 毫升/分钟条件下, 其相应的指标比同样组成的三酰甘油物理混合物的氧化稳定性高至少 1.5 倍。

4. 制备权利要求 1 到 3 之一的脂类组合物的方法, 其以如下连续步骤为特征:

1) 含富集棕榈酸的棕榈油, 富不饱和亚麻酸和 α 亚麻酸脂肪酸的植物油, 一种作为花生四烯酸来源的油, 一种作为二十二碳六烯酸来源的油按一定比例组成的脂类混合物被非区域专一酯交换以获得所需要的、脂肪酸残基随机分布于三酰甘油 1-, 2-和 3-位的脂肪酸组合物,

2) 用 1, 3-区域特异性脂肪酶使步骤 1) 的混合物与主要含中链脂肪酸和油酸的游离脂肪酸混合物进行酯交换, 和

3) 从步骤 2) 反应物中除去游离脂肪酸。

5. 权利要求 4 的方法, 其特征在于步骤 1) 的酯交换用有效量的催化剂, 特别是甲醇钠, 在低于 80℃, 惰性气体中, 通过化学途径完成。

6. 权利要求 4 的方法, 其特征在于在步骤 3) 中, 过量游离脂肪

酸以及交换过程中形成的脂肪酸通过中和法或真空下的蒸气蒸馏法被除去。

5 7. 权利要求 4 的方法，其特征在于在步骤 3) 中，通过在高于所述脂类熔点和低于水-醇混合物沸点的温度下，通过游离脂肪酸的受控制的中和作用，同时最小化水解以及皂化作用而除去过量游离脂肪酸以及交换过程中形成的脂肪酸，这样，操作在水-醇相中进行，轻微搅拌使脂相和与脂相不混溶的水-醇相之间的游离脂肪酸分开，同时逐步加入碱到水-醇相，特别通过调 pH 到设定点，范围在 8.5 到 10 9.5，在此过程中，肥皂被形成，它们在水-醇相中被产生出来时被增溶，在平衡和脂相的逐步脱酸化之间发生移动直到 pH 被稳定，此时全部脂肪酸被抽提出来，并且在此过程中，中和作用后，两相通过倾析而被分开并回收脱酸化的脂相，特别例如通过真空下挥发除去其中的乙醇，并特别通过用一种水-醇溶液洗涤或通过用一种吸附剂特别是无定型硅胶处理除去残留的肥皂。

15 8. 含适当水解的蛋白质，碳水化合物，脂类以及需要的时含维生素和微量元素的婴儿食品，其具有的特征是按干物质重量计，该食品含 15 到 35% 的脂类，其中的 50 到 100% 由权利要求 1 到 3 之一的脂类组合物构成。

20 9. 权利要求 8 的一种婴儿食品的制作方法，通过湿混各种成分而成液体形式，继之以灭菌或巴斯德消毒并无菌包装，其特征在于权利要求 1 的脂类组合物被掺入其中。

10. 权利要求 8 的婴儿食品的制作方法结合，通过干燥各种成分的液体混合物而成粉末形式，例如通过喷雾干燥或干燥混合各种成分，特征在于权利要求 1 到 3 之一的脂类组合物被掺入其中。

说明书

用于婴儿制剂的脂类组合物及其制备方法

5 本发明涉及膳食脂类，特别用于婴儿制剂的膳食脂类。本发明涉及接近人类乳脂类的脂类组合物。

人乳脂肪基本上包含三酰甘油 (TAG)，其脂肪酸结构，组成及分布是特有的。特别是，其特征在于在三酰甘油有两个长链多聚不饱和脂肪酸 (LC-PUFA) 即：主要位于三酰甘油第二位的花生四烯酸 (AA, C20: 4, n-6) 和二十二碳六烯酸 (DHA, C22: 6, n-3)，其特征还
10 在于富含饱和 (SFA) 棕榈酸 (P, C16: 0) 和 P 主要位于三酰甘油 2-位的事实。

用于婴儿制剂的脂肪组合物接近人乳脂肪而且这类组合物的制备过程在专利 EP-B-94/01306) 和在专利申请 W094/26855 (PCT/EP 94/01306) 以及 W094/26854 (PCT/EP 94/01304) 中被描述。这些组
15 合物包含 TAG 的混合物，其中位于三酰甘油的 2-位的 50% 以上的脂肪酸是 SFA，主要是 P，并且其中三酰甘油在 1, 3-位含中链 C₈-C₁₄ 不饱和脂肪酸以及饱和脂肪酸 (MCFA)。

制备这些组合物的方法 (该方法在 EP-B-209327 中有描述) 在于由一个混合物的 1, 3-区域特异性脂肪酶催化的酯交换，该混合物一
20 方面由含 80% 三硬脂精和 20% 1, 3-二棕榈酰-2-油精组成，而另一方面由含大量不饱和脂肪酸的游离脂肪酸混合物组成。在 1, 3 区域特异性脂肪酶的作用下，中链不饱和与/或饱和脂肪酸残基被加入到 2-棕榈酰-甘油酯的 1, 3-位。然后，粗混合物的游离脂肪酸通过蒸汽蒸馏法被除去。所产生的合成 TAG 混合物最后与各种植物油混合。

25 在 WO 94/26855 中，用 1, 3-区域特异性脂肪酶对上述以一定比例与植物油混合的合成 TAG 混合物进行酯交换。

在 WO 94/26854 中，在酶处理除去二甘油酯后的适当时候，通过用 1, 3-区域特异性脂肪酶在富含单或双不饱和酸的油中酯交换从上述合成 TAG 混合物中部分除去三饱和 TAG。

30 该已知方法有些缺陷。

- 由于大多数常用的脂肪酶对聚不饱和脂肪酸 (PUFA)，特别是对 LC-PUFA，有低活性，很难用 1, 3-区域特异性脂肪酶将需要量的

这些脂肪酸，特别是 DHA 结合到 TAG 中。因此，为达到适合的结合度，必须使用大大过量的脂肪酸，例如以浓缩的形式，和长的反应时间。PUFA 的浓缩物是很昂贵的。长反应时间能引起 PUFA 的明显氧化，PUFA 在其为游离脂肪酸形式时特别易于氧化。这种氧化降低 PUFA 的营养价值并可产生有害健康的降解产物。

- 而且，使用 1, 3-区域特异性脂肪酶产生过量的三饱和 TAG 和二甘油酯。需要后续的酶处理，特别是要从粗产物中除去过量的三饱和 TAG，这使得该方法复杂而又昂贵。

- 最后，所得到的脂酯混合物无论如何必须与其他脂肪混合以便结合到人乳脂肪的组合物中。

本发明的目的是提供一种合成的 TAG 组合物，该组合物的组成与结构接近人乳相关成分，所使用的掺入 PUFA 的合成方法不引起所述 PUFA 明显的破坏性氧化。

因此，本发明涉及一种合成液体组合物，该组合物中脂肪酸的成分与分布接近人乳脂肪，其特征在于：

- 所述组合物含低于 2%重量比的游离脂肪酸，

- 按重量计，三酰甘油的脂肪酸含：

- 35%到 55%的饱和脂肪酸，其中 18%到 36%的棕榈酸，2 到 40%的辛酸和癸酸，最多 10%月桂酸和最多 10%肉豆蔻酸，

- 30 到 45%的单不饱和脂肪酸，

- 9 到 22%的多聚不饱和脂肪酸，其中含花生四烯酸的长链 n-6 聚不饱和脂肪酸低于 2%，而含二十二碳六烯酸的长链 n-3 不饱和脂肪酸低于 1%，并且 n-6: n-3 脂肪酸之比率是 5: 1 到 15: 1，

- 棕榈酸主要在三酰甘油的 2 位，而花生四烯酸和二十二碳六烯酸分布在三酰甘油的 1-，2-，和 3-位。

AA 和 DHA 酸可主要在三酰甘油的 2 位。

由于这更主要是为成熟前婴儿食用而设计的，本发明的脂类组合物是辛酸和癸酸优选占三酰甘油脂肪酸重量的 2 到 10%那类。

本发明还涉及上述脂类组合物的制备方法，其以如下连续步骤为特征：

1) 含富集棕榈酸的棕榈油，富不饱和亚麻酸和 α 亚麻酸脂肪酸的植物油，一种作为花生四烯酸来源的油，一种作为二十二碳六烯酸

来源的油按一定比例组成的脂类混合物被非区域专一酯交换，以获得所需要的三酰甘油 1-， 2-和 3-位之间脂肪酸残基随机分布的脂肪酸组合物。

2) 用 1, 3-区域特异性脂肪酶使步骤 1) 的混合物与主要含中链脂肪酸和油酸的游离脂肪酸混合物进行酯交换， 和

3) 从步骤 2) 反应物中除去游离脂肪酸。

步骤 1) 的目的是增加 P 在 TAG2 位的数量并在 TAG 的 1-, 2-, 3-位掺入 PUFA，特别是 LC-PUFA 如 DHA 和 AA。初始混合物富含棕榈酸，例如棕榈硬脂精以使 TAG 的 2-位有约 40% 的 P。非区域特异性酯交换作用可由非区域特异性脂肪酶催化通过酶反应途径或优选由化学催化剂催化通过化学途径完成。通过此反应，存在于 TAG 不同位置上的天然脂类中的脂肪酸的非随机分布被转换成随机分布，就是说，脂肪酸在 3 个位置间被均等重新分配。在此第一步，位置 2 的 P 的含量超过约 42%，十分类似于人乳中整个 P 的存在。若将 1-和 3-位的 P 纳入考虑，则存在的 P 超过了人乳。

PUFA 脂肪酸，特别是 LC-PUFA 以 TAG 的形式经历了重排反应，它们比游离脂肪酸的混合物更稳定，并在有限的反应时间，较低温度和惰性气体例如氮气中进行。另一方面根据已有技术，应首先制备意欲作为脂解底物的脂肪酸混合物，这也会部分的引起它们的氧化降解。

与同样 PUFA 脂肪酸组合物的单一脂类混合物相比，该反应产生的脂类组合物有明显提高的氧化稳定性。这可能是 TAG 各种位置之间 PUFA 脂肪酸分布的结果。

步骤 2) 的目的是选择性地用其他脂肪酸，特别是 MCFA 和油酸 (O)，而不是 PUFA 置换 1, 3 位的 P。为达此目的，利用动态分辨的优点，就是说事实上大多数 1, 3-区域特异性脂肪酶 (一般是遗传工程修饰的或以其他方式例如从 *Mucor miehei* 和 *Candida cylindracea* 中得到的) 和胰脂肪酶，优先对 MCFA, P 和 O 发生反应，并以区别方式对含 4, 5 和 6 双键例如 DHA 和 AA 发生反应。在这种方式中，过量的 P 被迅速交换，留下 PUFA，特别是 DHA 在 1-和 3-位实际上无任何改变。

据观察，在随后的游离脂肪酸分离之后，步骤 2 获得的混合物之

TAG 的氧化稳定性仍保留着甚至被增强。

根据本发明，该方法的第二步之后，必须除去过剩的游离脂肪酸和在交换过程中形成的物质，它们可能受到氧化作用。为达此目的，可以使用任何已知方法例如常规的中和法或真空下的蒸汽蒸馏法。

5 此第三步优选通过进行有控制的游离脂肪酸中和法来完成，并因此有选择精炼，水解作用最小化和皂化。有选择精练的原理是在水-醇相进行操作，并轻微搅拌，这样在脂相和与脂相不混溶的水醇相之间产生游离脂肪酸部分，同时逐渐加入一种碱例如浓缩的水合氢氧化钠或氢氧化钾溶液到水醇相中，例如通过调 pH 计到一设置点，例如
10 约 9.5 的方法。肥皂被形成，它们在水-醇相中被生产时是增溶的，由此在平衡和和脂相的逐步脱酸化之间产生移动。所选择的 pH 使酚衍生物的中和作用达最小。所选的反应温度高于脂类的熔点并低于水-醇混合物的沸点。在抽提出全部脂肪酸时，pH 达到稳定，表示该反应的终止。在中和作用后，用倾析法分开两相并回收脱酸化脂相，从
15 中除去乙醇，例如通过真空中挥发的方法，并除去残留皂，例如通过用水-醇溶液洗或通过用吸附剂处理，特别是用无定型硅胶处理。

本发明还涉及含适当水解的蛋白质，碳水化合物，脂类和适当维生素和微量元素的婴儿食品，其特征在于，按干物质重量计，该食品含 15 到 35% 的脂类，其中 50 到 100% 由上述脂类组合物构成。

20 这类婴儿食品可制成才落入上述脂类组合物的液体或粉末形式，例如对液态产品或干燥品来说，湿混各种成分，随后灭菌并防腐包装，对粉末来说通过喷雾干燥或通过干燥混合。

以下实施例解释本发明。其中，成分和百分数用重量表示除非另有说明。

实施例 1

1.1) 化学酯交换

一种脂类混合物 (其性质及成分在下表 1 中给出) 被用做起始物质:

表 1

油/脂肪	混合物 (%)	来源	特征
鱼油	2	Nippon Suisan Kaisha	富含 DHA
AA 的油来源	1	Gist-Brocades	AA, 37% (单细胞有机体的油)
豆油	10	市售	源于 ALA
棕榈硬脂精	5	Loders Crocklaan	P, 75%
棕榈油	82	Morgia	源于 P

含 24 克鱼油 (24.6%DHA 和 6.4%EPA) 的上述脂类混合物, 作为 AA 来源 (含 37%AA) 的油 12 克, 60 克棕榈硬脂精 (含 75%的 P), 984 克棕榈油和 120 克豆油 (含 LA 和 ALA) 在 0.5% 甲醇钠做催化剂存在下, 于 50℃ 被随机酯交换, 在氮气下持续搅拌 4 小时。然后用 2 升热水洗反应混合物以除去肥皂, 然后在 50℃, 20 巴真空下干燥。

为避免氧化反应, 可向其加入乙二胺四乙酸钠盐 (EDTA- Na_3)。

1.2) 1, 3-区域特异性酶促酸水解

酸水解是在 1, 3-区域特异性脂肪酶催化下一种混合物的重排, 该混合物由前述步骤 1 的产物和下表 2 给出的脂肪酸成分的混合物组成:

表 2

脂肪酸	%
C8: 0	10
C10: 0	15
C12: 0	10
C14: 0	1.6
C16: 0	3

C16: 1	3.2
C18: 0	1.7
C18: 1	45
C18: 2	6.3
C18:3 (α)	0.3
其他	3.9

940 克前述步骤 1 的产物和 940 克市售油酸与含上述表 2 给出成分的 C_{8-12} : 0 酸的混合物由相对于底物 10% 的固定化 1, 3-区域特异性脂肪酶 (Lipozyme, IM 60, Novo) 催化进行酯交换。通过加入 6% 水调整脂肪酶的水含量并使其在用前放置 10 小时。然后在 40℃, 氮气下反应 5 小时。反应后, 通过过滤除去脂肪酶并回收含 TAG 和游离脂肪酸的粗混合物。

1.3) 控制中和反应以除去游离脂肪酸

前述步骤的 1.4 公斤粗混合物和 3.5 升 90% 乙醇被引入反应器并在 40℃, 一个氮气压下轻微搅拌。连续加入 670 克 25% 水合氢氧化钾溶液到其中同时通过调 pH 在设定值 9.5 保持反应基质的 pH 在 8.5 和 9.5 之间。肥皂被形成, 它们在与脂相不混溶的水-醇相中形成时被增溶, 脂相与水-醇相之间的脂肪酸部分发生平衡移动向水-醇相, 并因此产生脂相的逐步脱酸化。pH 稳定时表示全部的脂肪酸已被抽提出。然后停止搅拌; 较轻的水-醇相与脂相分开并回收脂相。

在三酰甘油甲基化 (FAMES) 后, 通过所述脂肪酸甲酯的气-液层析确定所得产物中的脂肪酸成分。

为确定脂肪酸在 TAG 的 2 位和 1, 3-位的分布, 用胰脂肪酶 (IUPAC 2.210) 进行脂解。

主要脂肪酸分析及其在所得混合物中的分布的结果在下表 3 中给出:

脂肪酸 (fames)	脂肪酸占总量的% (fames)	TAG2 位的脂肪酸 (% 分析值)	TAG1, 3 位的脂肪酸 (% 计算值)
C8: 0	3.07	0.06	4.56
C10: 0	5.08	0.21	7.48
C12: 0	4.04	0.39	5.83
C14: 0	1.2	1.03	1.28
C16: 0	28.13	40.86	21.88
C18: 0	3.33	4.62	2.7
C18: 1	37.83	34.1	39.66
C18: 2	10.93	12.57	10.12
C18:3, n-3(alpha)	0.56	0.6	0.54
C20:4, n-6(AA)	0.26	0.34	0.22
C22:5, n-3(EPA)	0.18	0.2	0.17
C22:6, n-3(DHA)	0.42	0.35	0.46
其他	4.97	4.67	5.1

据观察, 脂肪酸的组成及其在 TAG 上的分布十分类似于人乳。

而且, 在 80℃, 空气流速 150 毫升/分钟诱导期间, 用 Omnion (R) 仪 USA 进行加速氧化反应测试中检测的所得产物氧化稳定性 (OSI) 对应于 160 小时的指标, 就是说约比起始脂类混合物 100 小时测定的值高 1.5-2 倍。

脂肪的固体成分由脉冲核磁共振 (NMR, IUPAC 2.150 6.2.2.2) 确定如下:

10	在温度 (℃) 时显示的固体含量 (%)
	N-5 40.3
	N-10 29.9
	N-15 19
	N-20 10.4
15	N-30 1.2

N-35

0

前述结果显示无明显数量的不需要的三不饱和 TAG.

实施例 2

5 本方法如实施例 1, 步骤 1) 中的描述进行, 不同的是初始脂类混合物成分在下表 4 中给出:

表 4

油/脂肪	混合物 (%)	来源	特征
鱼油	2	Nippon Suisan Kaisha	富含 DHA
AA 的油来源	1.5	Gist-Brocades	AA, 37% (单细胞有机体的油)
豆油	15	市售	源于 ALA
棕榈油	81.5	Morgia	源于 P

然后, 酶促酯交换如实施例 1, 步骤 2 中的描述进行, 不同的是游离脂肪酸混合物的组合物在下表 5 中定义并且 TAG/脂肪酸混合物比率是 70: 30.

10

表 5

脂肪酸	%
C10:0	12
C12:0	15
C14:0	6.7
C16:0	3.2
C16:1	3.5
C18:0	1.8
C18:1	48.6
C18:2	6.7
C18:3 (α)	0.3
其他	2.2

主要脂肪酸及其在所得混合物中分布的分析结果在下表 6 中给出:

表 6

脂肪酸 (fames)	脂肪酸占总量的% (fames)
C10:0	2.89
C12:0	4.04
C14:0	2.32
C16:0	28.84
C18:0	4.62
C18:1	38.65
C18:2	13.23
C18:3, n-3, (α)	0.94
C20:4, n-6 (AA)	0.48
C20:5, n-3 (EPA)	0.21
C22:6, n-3 (DHA)	0.36
其他	3.42

据观察, 脂肪酸组合物及其在 TAG 上的分布十分类似于人乳脂肪。